

Biochemistry & Cell Biology 35 784–791. (doi:10.1016/S1357-2725(02)00262-5).

8. Daud A.I., Bumpus F.M. & Husain A. 1990 *Characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE)-containing follicles in the rat ovary during the estrous cycle and effects of ACE inhibitor on ovulation*. Endocrinology 126 2927–2935. (doi:10.1210/endo-126-6-2927).

9. Do Y.S., Shinagawa T., Tam H., Inagami T. & Hsueh W.A. 1987. *Characterization of pure human renal renin. Evidence for a subunit structure*. Journal of Biological Chemistry 262 1037–1043.

10. Баранов В. С. *Геном человека и гены «предрасположенности»*. Введение в предиктивную медицину / Баранов В. С., Баранова Е. В., Иващенко Т. Э., Асеев М. В. – Интермедика 2000 – 263с.

11. Fernandez LA, Tarlatzis BC, Rzasa PJ, Caride VJ, Laufer N, Negro-Vilar AF, DeCherney AH & Naftolin F 1985 *Renin-like activity in ovarian follicular fluid*. Fertility and Sterility 44 219–223.

12. Jarry H., Meyer B., Holzapfel G., Hinney B., Kuhn W & Wuttke W. 1988. *Angiotensin II/III and substance P in human follicular fluid obtained during IVF: relation of the peptide content with follicular size*. Acta Endocrinologica 119 277–282.

13. Glavnik N., Petrovic D. *M235T Polymorphism of the angiotensin gene and I/D polymorphism of the angiotensin-I converting enzyme gene in essential arterial hypertension in Caucasians*. Folia Biol Prague. 2007;53:69–70. [PubMed]

14. Agachan B., Isbir T., Yilmaz H., Akoh E.. *Angiotensin converting enzyme I/D, angiotensinogen T174M-M235T and angiotensin –II type I receptor A1166C gene polymorphism in Turkish hypertensive patients*. Exp Mol Med. 2003;6:545–9. [PubMed]

15. Pasha M. A., Khan A., Kumar R., Ram R., Grover S, Shrivatsva K, Selvamurthy W. *Variations in angiotensin converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism in Indian populations of different ethnii corigins*. J Bio Sci. 2002;27:67–70. [PubMed]

## ANALIZA MOLECULAR-GENETICĂ A GENEI PAH LA PACIENȚII CU PKU DIN REPUBLICA MOLDOVA

Kiril Boiciuc – masterand,

Natalia Ușurelu – dr. în med., conf. cerc.,

Victoria Sacară – dr. în med, conf. cerc.,

Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova

tervenom@gmail.com

### Rezumat

Fenilketonuria (PKU) este o patologie metabolică ereditară cu transmitere autozom recesivă cauzată de deficiența enzimei fenilalanin hidroxilaza (PAH). În urma blocului enzimatic crește cantitatea Phe și a metabolizilor ei care sunt extrem de toxici pentru sistemul nervos în dezvoltare, suscitând un retard mental sever. Analizând rezultatele screening-ului neonatal frecvența PKU în Republica Moldova poate fi considerată de 1 la 7325 de nou-născuți, cu o rată medie de cuprindere de 75,2%. Scopul lucrării a fost de a aprecia frecvența mutațiilor cercetate în gena PAH la pacienții cu PKU moldoveni și de a monitoriza eficiența diagnosticului molecular-genetic a PKU în Republica Moldova. Pentru aceasta au fost supuse cercetării molecular-genetice 89 de mostre de ADN a pacienților cu PKU în Republica Moldova. În urma cercetării moleculare s-a stabilit că cea mai frecventă mutație în gena PAH în populația moldovenească este R408W (50,0%) urmată de P281L (5,1%), R262Q (3,9%) R158Q, R252W, (a câte 2,8% fiecare), IVS12nt1 (2,3%). Spectrul mutațional din gena PAH cercetat în Republica Moldova la momentul actual permite depistarea mutațiilor cu rata de 69,7%, ceea ce accentuează necesitatea implementării noilor metodici pentru depistarea mutațiilor noi, ceea ce ar eficientiza efectuarea diagnosticului prenatal în familiile cu risc prevenind nașterea copiilor cu PKU în Republica Moldova.

**Cuvinte-cheie:** fenilketonurie, gena PAH, mutație, fenilalanina, diagnosticul molecular-genetic

### Summary: Molecular-genetic analysis of PAH gene mutations in PKU patients from Republic of Moldova

Phenylketonuria (PKU) is an inherited metabolic pathology autosomal recessive caused by deficiency of the hepatic enzyme phenylalanine hydroxylase (PAH). Enzymatic block caused by mutations in the PAH gene increases blood Phe levels, that leads to severe mental retardation with clinical and biochemical polymorphism. According to neonatal screening data the frequency of PKU in Republic of Moldova is 1 to 7325 newborns, the mean screening rate being 75,2%. Aim of the study was to appreciate the frequency of PAH gene mutations in the Moldavian PKU patients and to monitor the effectiveness of molecular-genetic diagnosis of PKU in Moldova. For this reason were investigated 89 DNA samples of Moldavian PKU patients. Using molecular research data there has been established that the most common mutation in the PAH gene in Moldavian PKU population is R408W (50,0%) followed by P281L (5,1%), R262Q (3,9%), R158Q (2,8%),

R252W (2,8%), IVS12nt1 (2,3%). Mutational spectrum of PAH gene investigated in Moldova currently allows to detect mutations with the rate of 69,7%, which suggests the needing of implementation of methods to detect new mutations in PAH gene, which would improve the performance of prenatal diagnosis in families of risk preventing the birth of children with PKU in Republic of Moldova.

**Key words:** PKU, *PAH gene*, mutation, phenylalanine, molecular-genetic diagnostic

#### Резюме: Молекулярно-генетический анализ гена ФАГ у больных ФКУ в Молдове

Фенилкетонурия (ФКУ) является наследственным аутосомно-рецессивным заболеванием, вызванное дефицитом фермента фенилаланингидроксилазы (ФАГ). Из-за блокирования фермента увеличивается объем Phe и его метаболитов, которые обладают высокой токсичностью для развивающейся нервной системы, что является причиной тяжелой умственной отсталости. Анализируя результаты неонатального скрининга в Молдове, была определена частота встречаемости ФКУ, которые являются 1-7325 новорожденных, при среднем показателе охвата 75,2%. Цель исследования состояла в оценке частоты мутаций в гене ФАГ у молдавских пациентов с ФКУ и мониторинга эффективности молекулярно-генетической диагностики ФКУ. Для этого были проведены молекулярно-генетические анализы в 89 образцах ДНК больных с ФКУ. Молекулярное исследование показало, что наиболее частой мутацией в гене ФАГ в молдавском населении является R408W (50,0%), а P281L (5,1%), R262Q (3,9%), R158Q (2,8%), R252W (2,8%), IVS12nt1 (2,3%) с наименьшей частотой. В настоящее время исследование мутационного спектра гена ФАГ в Молдове позволяет обнаруживать мутации только в 69,7%, что подчеркивает необходимость внедрения методов для обнаружения новых мутаций в гене ФАГ, которые бы повысили эффективности выполнения молекулярно-генетической диагностики в семьях высокого риска и предотвращения рождения детей с ФКУ в Республике Молдова.

**Ключевые слова:** ФКУ, ген ФАГ, мутация, фенилаланин, молекулярно-генетическая диагностика

#### Introducere

Fenilketonuria (PKU) este o patologie metabolică ereditară, autozom recesivă (OMIM 261600), cauzată de deficiența enzimei hepatice fenilalaninhidroxilaza (PAH, EC 1.14.16.1) care catalizează conversia aminoacidului esențial fenilalanina (*Phe*) în tirozină (*Tyr*). În urma blocului enzimatic *Phe* ajunsă în organism prin alimentație se acumulează în cantități mari în sânge. Ea nu se supune conversiei metabolice prin hidroxilare, ci transaminării și decarboxilării, iar, [12, 24].

Gravitatea manifestărilor clinice cu evoluție până la retard mental sever [12] atribuie fenilketonuriei importante valențe medicale și sociale. Diagnosticul precoce și tratamentul PKU previn instaurarea retardului mintal și fizic, ceea ce permite copiilor cu PKU să se dezvolte până la calitatea de membri deplin ai societății și să se integreze reușit în viață.

Unica metodă de tratament al PKU, din momentul descoperirii până în prezent, rămâne a fi dietoterapia, care prevede limitarea aportului *Phe* cu alimentele și folosirea substituenților proteici, ce nu conțin *Phe* și sunt îmbogățiți cu *Tyr* și vitamine. Un efect benefic asupra tratamentului o are administrarea co-factorului enzimatic BH<sub>4</sub> care poate ameliora indicii de calitate a vieții la 30-50% din pacienții cu PKU [1, 3, 4, 22].

Gena PAH este situată pe cromozomul 12q22-12q24 [14] în care au fost descrise până la 564 mutații ce induc patologia (<http://www.pahdb.mcgill.ca>). O mare parte din mutațiile identificate reprezintă sub-

stituții de un singur nucleotid (SNPs). Din cele 564 de mutații cunoscute din gena PAH 341 sunt mutații de tip missens (60,46%), 76 – deleții (13,48%), 62 – mutații de splicing (10,99%), 32 – silence (5,67%), 28 – nonsense (4,96%) 18 – inserții (3,19%) și 4 mutații nu sunt încă identificate după tip [18]. Cea mai des întâlnită mutație în gena PAH din populația europeană este *R408W*, ce determină substituția Argininei cu Triptofan în locusul 408 a moleculei PAH [9, 10].

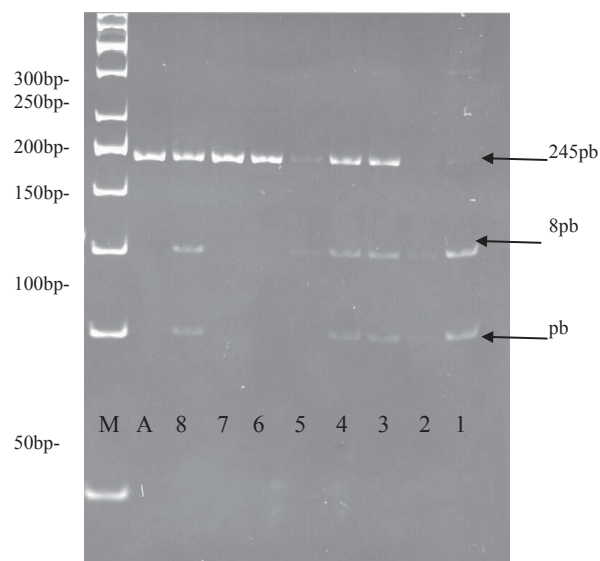


Fig. 1. Electroforeograma analizei RFLP a exonului 12 (*R408W*) după digestia cu *Sty I*: M – marker *PUC/MspI*; A – amplicon; 5,6,7 – normal; 3,4,8 – Heterozigoți; 1,2 – Homozigoți după mutația *R408W*

Mutația *R408W* este depistată prin amplificarea unui fragment de ADN de 245pb din exonul 12 a genei PAH, urmat de clivarea cu restrictaza *Sty I*. În cazul purtătorului homozigot se observă două fragmente de 148pb și 97pb, iar în cazul heterozigoților: 245pb și (148pb și 97pb) (*fig.1*). Mutația *R158Q* din exonul 6 este identificată prin amplificarea a 162pb care, apoi este supus digestiei cu restrictaza *Msp I*. În cazul prezenței mutației dispăre site-ul de restricție care este prezent în alelele sănătoase (fragmentele 141pb și 21pb) și observăm un fragment de 162pb. Mutația *P281L* – pentru identificarea mutației localizate în exonul 7 a fost amplificat 218pb și produsul obținut a fost supus digestiei cu restrictaza *Dde I*. În cazul prezenței



mutației va apărea site-ul de restricție cu vizualizarea a două fragmente 190 pb și 20 pb (fig. 2). Mutatiile *R252W* și *R261Q* – aceste două mutații, localizate în exonul 7 sunt identificate prin amplificarea unui fragment de 218pb și restricția cu *Ava I* și *Hinf I*. În cazul mutației *R252W* purtătorii homozigoti vor avea două fragmente de 165pb și 53pb, iar în cazul heterozigotilor: 218pb și, (165pb și 53pb). Mutației *R261Q* îi este caracteristic apariția site-ului de restricție care este absent în alelele sănătoase și observăm fragmentele de 147pb și 71pb. Mutația *IVS12nt1* este depistată prin amplificarea unui fragment de ADN de 177pb din exonul 12 și regiunea intronului adiacent, urmat de clivarea cu restrictaza *Rsa I*. În cazul prezenței mutației dispare site-ul de restricție care este prezent în alelele sănătoase (fragmentele 154pb și 23pb) și se va observa un fragment de 177pb (fig. 3).

### Rezultate și discuții:

În gena PAH sunt identificate cca 560 de mutații, dar una din cea mai des depistată pe cromozomii bolnavilor cu PKU este mutația *R408W* [7]. La pacienții cu PKU din Republica Moldova această mutație a fost depistată în 50,0% din cazuri (tab. 2), cel mai des, fiind diagnosticată în formă homozigotă (26%) (tab.1). Această mutație duce la schimbarea Arg-408 cu Thr în enzima PAH, ceea ce produce erori în menținerea domeniului catalitic și tetrameric împreună. În rezultatul mutației enzima PAH pierde până la 97% din activitatea sa enzimatică și duce la instaurarea unei forme severe de PKU [8, 9, 10].

În populația bolnavă a Republicii Moldova mutația *P281L* se întâlnește cu frecvența de 5,01% (tab. 2). Până la moment nu au fost identificate genotipuri homozigote după această mutație, ea fiind depistată în stare heterozigotă combinată cu mutația *R408W* sau altă mutație necunoscută (mutația X). Mutația *P281L* este frecventă în populațiile sud-europene și cauzează un fenotip variabil de la o formă ușoară de PKU până la una severă. În cazul mutației are loc substituția Prolinei, care participă la formarea site-ului activ în apropierea Fe, cu Leucina care, la rândul ei, este mai puțin rigidă ca prolina, ceea ce duce la schimbări conformaționale ale centrului activ [5,10, 25].

A treia după frecvența mutației din gena PAH din spectrul mutațional cercetat în Republica Moldova este *R261Q* care este depistată în 3,9% din cazuri. Conform bazei electronice de date (<http://www.pahdb.mcgill.ca>) această mutație este frecvent întâlnită la pacienții cu PKU. În cazul mutației *R261Q* Arg din poziția 216 care ajută la stabilizarea site-ului catalitic este înlocuită cu Gln, dar cu toate acestea activitatea enzimatică scade până la 30%, ceea ce duce la instaurarea unei forme ușoare de PKU [10,11].

Mutațiile *R158Q* și *R252W* au frecvența mică în

populația cercetată (2.8% fiecare) și, se întâlnesc numai în tandem cu alte mutații ca *R408W* sau X (tab. 1). De remarcat este faptul, că a fost depistat un pacient cu genotipul heterozigot compus din mutația *R158Q* și *R252W* (1,2%). Acestea alterează aminoacizii ce răspund de formarea domeniilor catalitice și reglatorii. Substituția unui aminoacid cu altul duce la destabilizarea structurii domeniilor ceea ce la rândul său scade activitatea enzimatică până la 10% în cazul mutației *R158Q* sau sub 1% în cazul mutației *R252W* [10,11].

Mutațiile de splicing *IVS12nt1* din intronul 12 duce la sinteza unei enzime scurtate la care lipsesc 52 de aminoacizi de la capătul C-terminal, ceea ce generează o activitate enzimatică nulă, caracteristică PKU clasice [9, 10]. Frecvența acestei mutații este de 2,3% și, ea a fost depistată doar în stare heterozigotă combinată cu mutația ca *R408W* sau X.

Din alelele mutante cercetate în gena PAH 56,2% conțin o alelă X (necunoscută), identificată în formă homozigotă la 5,6% din pacienți cu PKU, la aceștia nefiind definitivat genotipul care a indus patologia (tab.1).

Tabelul 1

### Frecvența genotipurilor din gena PAH a pacienților cu PKU din Moldova

Genotip	Nr. de cazuri	Frecvența (%)
R408W/R408W	23	26%
R408W/P281L	6	6,74%
R408W/R261Q	4	4,49%
R408W/R158Q	2	2,25%
R408W/R252W	1	1,12%
R408W/IVS12	1	1,12%
R158Q/R252W	1	1,12%
E390G/P225T	1	1,12%
R408W/X	29	32,58%
R252W/X	3	3,37%
P281L/X	3	3,37%
R261Q/X	3	3,37%
IVS12/X	3	3,37%
R158Q/X	2	2,25%
IVS10/X	1	1,12%
IVS10/X	1	1,12%
X/X	5	5,60%
Total	89	100%

Conform datelor din Registrul Național a bolnavilor cu PKU rata de cuprindere a screening-ului molecular a genei PAH este de 69,7%, ceea ce denotă faptul că spectrul de mutații cercetat în Republica Moldova este prea îngust pentru determinarea genotipului complet la pacienții cu PKU. Strategia mondială în vederea cercetărilor în PKU urmărește crearea unei baze unice a mutațiilor în gena PAH în scopul determinării distribuirii geografice a mutațiilor

lor care diferă de la populație la populație și în scopul reuniunii cercetărilor în domeniul PKU. Screening-ul molecular al genei PAH la pacienții cu PKU în majoritatea țărilor include testarea obligatorie a 10-20 mutații cel mai frecvent întâlnite în populațiile lor [13, 19].

Tabelul 2  
**Frecvența mutațiilor din gena PAH identificate la pacienții cu PKU din Moldova**

Alelele	Nr. de cazuri	Frecvența (%)
R408W	89	50,00%
P281L	9	5,06%
R261Q	7	3,93%
R158Q	5	2,81%
R252W	5	2,81%
IVS12	4	2,25%
IVS10	3	1,68%
E390G	1	0,56%
P225T	1	0,56%
X	54	30,34%
<b>Total</b>	<b>178</b>	<b>100,00%</b>

Spectrul mutațional în țările învecinate include mutații nestudiate la pacienții moldoveni cu PKU, dar potențial existente în populația Republicii Moldova, fapt care sugerează necesitatea lărgirii spectrului mutațional în gena PAH cu mutațiile mai frecvent întâlnite: K363fsdelG, P225T, IVS12nt1g→a (Romania) [17], L48S, E390G, I306V, Q20X, R261X (Serbia și Montenegro) [23], Y414C (Ucraina) [21], IVS10-11G>A (Polonia) [6].

Necesitatea studierii mutațiilor din gena PAH la pacienții cu PKU este determinată de folosirea datelor analizelor molecular-genetice în efectuarea diagnosticului prenatal direct în familiile cu PKU care stau la evidență la IMSP Institutul Mamei și Copilului și prevenirea nașterii copiilor cu PKU, în familiile de risc. Incapacitatea de a definitiva genotipul patologic ce a indus PKU, impune recurgerea la calea indirectă a diagnosticului prenatal care poate fi efectuată numai în familiile informative.

În perioada din 2001 până în prezent în cadrul IMSP Institutul Mamei și Copilului în laboratorul de Genetica Moleculară Umană au fost efectuate 17 diagnostice prenatale în familiile cu PKU dintre care în 7 cazuri diagnosticul de PKU a fost confirmat molecular genetic la făt, iar 6 sarcini din ultimele au fost întrerupte [2].

#### Concluzii:

1. Analiza spectrului mutațional al genei PAH a confirmat că mutația R408W este cea mai frecventă la pacienții cu PKU în populația Republicii Moldova (50,0%), care este urmată de P281L (5,1%), R262Q (3,9%) R158Q, R252W, (a câte 2,8% fiecare), IVS12nt1 (2,3%).

2. Spectrul mutațional din gena PAH cercetat în Republica Moldova permite depistarea mutațiilor cu rata de 69,7%, ceea ce accentuează necesitatea de implementare a noilor metodici pentru depistarea mutațiilor noi în gena PAH.

3. Cunoașterea genotipului determinant al patologiei contribuie la prevenirea nașterii bolnavilor cu PKU în familiile cu risc prin diagnostic prenatal.

#### Bibliografie

1. Blau N., *Defining tetrahydrobiopterin (BH4) - responsiveness in PKU*. J. Inher. Metab. Dis., 2008; 31: 2-3.
2. Boiciuc K., Ușurelu N., Sacară V., *Fenilcetonuria în Republica Moldova - diagnosticul prin screening neonatal și analiza molecular genetică*. A VI-a conferință regională Zilele neonatologiei moldave „Patologia malformativă neonatală”, 2013; pag. 146-153.
3. Brenton D.P. et al., *Phenylketonuria: treatment in adolescence and adult life*. European Journal Pediatrics, 1996; 155 (suppl): s93-s96.
4. Burlina A., Blau N., *Effect of BH4 supplementation on phenylalanine tolerance*. J. Inher. Metab. Dis., 2009; 32: 40-45.
5. Dobrowolski S. F., Heintz C., Miller T., *Molecular genetics and impact of residual in vitro phenylalanine hydroxylase activity on tetrahydrobiopterin responsiveness in Turkish PKU population*. Molecular Genetics and Metabolism, 2011; 116-121.
6. Dobrowolski S.F., Borski K., Ellingson C.C., *A limited spectrum of phenylalanine hydroxylase mutations is observed in phenylketonuria patients in western Poland and implications for treatment with 6R tetrahydrobiopterin*. J Hum Genet., 2009; 54(6):335-9.
7. Eisensmith R. C., Okano Y., Dasovich M., *Multiple Origins for Phenylketonuria in Europe*. Am. J. Hum. Genet., 1992; 51:1355-1365.
8. Eisensmith R. C. Goltsov A A, O'Neill C., *Reurrence of the R408W Mutation in the Phenylalanine Hydroxylase Locus in Europeans*. Am. J. Hum. Genet., 1995; 56:278-286.
9. Erlandsen H. and Stevens R. C., *The Structural Basis of Phenylketonuria*. Molecular Genetics and Metabolism, 1999; 68, 103-125.
10. Erlandsen Heidi, Marianne G. Patch., *Structural Studies on Phenylalanine Hydroxylase and Implications Toward Understanding and Treating Phenylketonuria*. PEDIATRICS, 2003; Vol. 112 No. 6.
11. Gavriluc A., *Polimorfismul secvenței ADN 12q24.1 în lănuite cu gena fenilalanin hidroxilazei în populația Republicii Moldova*. Academia de Științe a Republicii Moldova, Institutul de Genetică, 2004.
12. Groppa S., Gavriluc A., Coropceanu D., *Fenilcetonuria*. Chișinău, 2006.
13. Kasnauskien J., Cimbaliestien L., Kucinskas V., *Predicting a clinical/biochemical phenotype for PKU/MHP patients with PAH gene mutations*. Russian journal of genetics, 2008; Vol. 44, No. 10, pp. 1212-1218.
14. Lidsky A.S., *The PKU Locus in Man Is on Chromosome 12*. Am J Hum Genet, 1984; 36:527-533.

15. Loeber J. G., *Neonatal screening in Europe; the situation in 2004*. J Inherit Metab Dis, 2007.
16. Pavlovic S., Stojiljkovic M., *Molecular diagnosis of phenylketonuria: from defective protein to disease-causing gene mutation*, 2009.
17. Popescu T., Blazkova M., Kozak L., *Mutation spectrum and phenylalanine hydroxylase RFLP/VNTR background in 44 Romanian phenylketonuric alleles*. Human Mutation., 1998; Vol 12, Issue 5, pages 314–319.
18. Scriver C. R., Hurtubise M., Konecki D., Phommarinh M., *PAHdb 2003: What a Locus-Specific Knowledge-base Can Do*. HUMAN MUTATION, 2003; 21:333-344.
19. Smagulova F. O., Morozov I. V., *Molecular Genetics of Phenylketonuria in Inhabitants of Novosibirsk Region*. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2002; Vol. 38, No. 1, p. 40-44.
20. Smith I., Cook B., Beasley M., *Review of neonatal screening programme for phenylketonuria*, 1991; 333–335.
21. Soloviov O. O., Livshits L. A., *Screening for Mutant Variants of Exons 5, 7, and 12 in the Phenylalanine Hydroxylase Gene with the Use of Denaturing Gradient Gel-Electrophoresis*, Cytology and Genetics, 2009; Vol. 43, No. 4, pp. 237–240.
22. Steinfeld R., Kohlschutter A., Ullrich K., *Efficiency of long-term tetrahydrobiopterin monotherapy in phenylketonuria*. J. Inherit. Metab. Dis., 2004; 27: 449-453.
23. Stojiljkovic M., Jovanovic J., Djordjevic M., *Molecular and phenotypic characteristics of patients with phenylketonuria in Serbia and Montenegro*. Clin Genet., 2006; 70(2):151-5.
24. Uşurelu N., *Fenilketonuria consultul medico-genetic, dietoterapia, integrarea socială: Ghid practic – Ch.: Policolor*, 2008; 88 pag
25. Zschocke Johannes, *Phenylketonuria Mutations in Europe*, Hum. Mut., 2003; 21:345-356.

## PARTICULARITĂȚILE DIAGNOSTICE ALE BOLII WILSON ÎN LEGĂTURA CU VÂRSTA, SEXUL ȘI PREZENTAREA CLINICĂ

Natalia Mocanu – cerc. șt.,

CSRGM, IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Moldova

E-mail: gmocanud@yahoo.com

### Rezumat

Boala Wilson (BW) este o afecțiune genetică, autosomal recesivă, care afectează ficatul, creierul și corneea. **Scopul.** Evaluarea particularităților clinice cu clasificarea fenotipică a bolii și studierea relațiilor între forma clinică a bolii, vârsta și sexul pacienților. **Material și metode:** Noi am analizat 40 de pacienți cu diferite simptome, care reflectă BW. Diagnosticul a fost stabilit la toți pacienții cu afectarea inexplicabilă a ficatului și/sau tulburări neurologice sau neuropsihiatrice, prezența inelului Kayser-Fleischer, nivelul jos a ceruloplasminei serice, creșterea excreției cuprului urinar în 24 de ore. Pacienții au fost clasificați fenotipic și s-a studiat relația între forma clinică a bolii, vârsta și sexul pacienților. **Rezultate:** Schimbările neurologice au fost prezente în 38 (95%) de cazuri. Pacienții cu manifestări hepatice (media 17.3 ani; rata 9-30) au fost mai tineri în comparație cu pacienții cu simptomele neurologice (media 24.6 ani; rata 12-36). Manifestările neurologice au fost asociate cu vârsta mai mare și stabilirea mai îndelungată a diagnosticului. Nu au existat diferențe semnificative privind distribuția pe fenotipuri în raport cu vârsta sau sexul pacienților. **Concluzii:** Prezența manifestărilor hepatice la momentul diagnosticului BW descrește cu vârsta, pe când cea a manifestărilor neurologice crește. Distribuția pe fenotipuri nu este influențată de vârstă sau sex.

**Cuvinte-cheie:** Boala Wilson, forme clinice, vârsta, sex

### Summary: Diagnostic characteristics of Wilson's disease in relation to age, sex, and clinical presentation

Wilson's disease (WD) is a genetic, autosomal recessive disorder, which affects the liver, brain and cornea. **The aim.** To study different clinical presentations, their relation with age and sex. **Material and methods.** We analyzed 40 moldovan patients having diverse disease symptoms reflecting WD with unexplained liver and/or neurological or neuropsychiatric disorder, presenting of Kayser-Fleischer ring, low serum ceruloplasmin level and the amount of copper excreted in the urine. The patients were classified phenotypically and we studied the relation between clinical phenotype, age at diagnosis and sex. **Results:** The neurological changes were presented in 38 (95%) cases of all our patients. Patients with hepatic manifestation (17.6±0.96 years; range 9–30) were younger than patients with neurological symptoms (25.5±1.26 years; range 12–36). **Conclusions:** The presence of hepatic manifestations at the moment of diagnosis of WD decreases with age, while neurological one increases. The distribution on phenotypes was not influenced by age or sex.

**Key words:** Wilson's disease, Wilson's disease clinical phenotypes, age, sex.

### Резюме: Диагностические особенности болезни Вильсона в плане возраста, пола и клинических проявлений

Болезнь Вильсона (БВ) генетическое, аутомно-рецессивное нарушение, повреждающее печень, мозг и роговицу. **Цель.** Исследование различных клинических форм БВ и определение их связи с возрастом и полом. **Материалы и методы.** Мы проанализировали 40 молдавских пациентов с различными симптомами, отражающими БВ с необъяснимой печеночной, неврологической и нейропсихиатрической симптоматикой, присутствием кольца